

APPENDIX 3

(19) 日本国特許庁 (JP) 再公表特許 (A1)

(11) 国際公開番号

発行日 平成12年9月19日 (2000.9.19)

WO 99/38867

(43) 国際公開日 平成11年8月5日 (1999.8.5)

(51) Int.Cl.
C 07 D 471/04
A 61 K 31/435

国別記号

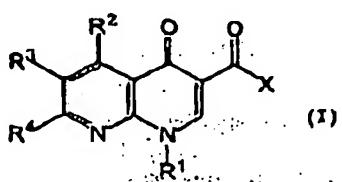
F I

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全146頁)

出願番号 特願平11-539181
 (21) 国際出願番号 PCT/JP 99/00404
 (22) 国際出願日 平成11年1月29日 (1999.1.29)
 (31) 優先権主張番号 特願平10-17009
 (32) 優先日 平成10年1月29日 (1998.1.29)
 (33) 優先権主張国 日本 (JP)
 (81) 指定国 EP (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), AU, CA, CN, HU, JP, KR, US

(71) 出願人 サントリー株式会社
 大阪府大阪市北区淡島浜2丁目1番10号
 (72) 発明者 島本 哲男
 大阪府吹田市高野台3-4-8
 (72) 発明者 井上 英和
 大阪府高槻市上牧町2-9-6
 (72) 発明者 林 靖浩
 大阪府三島郡島木町山崎1-9-5-803
 (74) 代理人 弁理士 石田 敬 (外2名)

(54) 【発明の名称】 ▲IV型ホスホジエステラーゼ阻害作用を有する1-シクロアルキル-1,8-ナフチリシン-4-オン誘導体

(57) 【要約】
式 (I) :

許容される塩またはその溶媒和物並びにそれらを有効成分として含むIV型ホスホジエステラーゼ阻害剤。

(式中、R¹は置換もしくは非置換のシクロアルキル基または置換もしくは非置換のヘテロシクロアルキル基を示し、R²、R³およびR⁴は、それぞれ独立に、水素原子、置換もしくは非置換の低級アルキル基またはハロゲン原子を示し、Xは基团R⁵または基团R⁶を示し、ここで、R⁵、R⁶は、それぞれ独立に、水素原子、置換もしくは非置換の低級アルキル基、置換もしくは非置換のシクロアルキル基、置換もしくは非置換のアリール基または置換もしくは非置換のヘテロアリール基を示し、R⁷は水素原子、置換もしくは非置換の低級アルキル基、置換もしくは非置換のシクロアルキル基を示す) で表される1-シクロアルキル-1,8-ナフチリシン-4-オン誘導体、その医薬的に

(30)

WO 99/38867

示す試験により確認された。

(1) LPS刺激マクロファージによるTNF- α 産生阻害活性測定法

LPS刺激マクロファージによるTNF- α 産生を阻害する本発明化合物の能力を評価するために、Immunopharmacol. 29, 121-127 (1995) に準じて以下のアッセイを用いた。

1) 6~10週齢の雌BALB/c系マウスを用いてチオグリコレート培地2mlを腹腔内投与し、4日後に腹腔内をPBS10mlで洗浄することにより、一匹あたり1ないし 2×10^7 個の腹腔滲出細胞を得た。赤血球溶解液(0.75%塩化アンモニウム、17mMトリス塩酸緩衝液、pH7.2)に懸濁し遠心操作後、10%ウシ胎児血清を含むRPMI1640培地に再懸濁し、96穴細胞培養プレートに 1×10^6 個/ $50 \mu\text{l}$ /wellの密度で播種した。これらの細胞は培養器に強固に付着すること、非特異的エステラーゼ染色に陽性であったことから、これをマウス腹腔マクロファージとして試験に用いた。なお実験には一晩37°C、50%CO₂の条件下で前培養したマウス腹腔マクロファージを用いた。

2) E. coli (血清型055:B5) 由来のLPSを1mg/mlの濃度でPBSに溶解した後、ろ過滅菌した。試験化合物をDMSOにて溶解し、最終使用濃度の1000倍濃度溶液とした。10%ウシ胎児血清を含むRPMI1640培地0.5mlに上記LPS原液 $10 \mu\text{l}$ (最終濃度10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) および被試物質原液 $1 \mu\text{l}$ を加え混和したものを、前記の細胞に対し $5 \mu\text{l}$ /well加え、さらに8時間培養した。各ウェルより培養上清を回収してそのTNF- α 濃度をELISA法 (Cytoscreen™ Immunoassay Kit mouse TNF- α , BioSource International社) にて測定した。

3) IC₅₀はLPS刺激により惹起されたTNF- α 産生を50%阻害する試験化合物濃度として、各化合物について算出した。

(2) 各化合物のLPS刺激マクロファージによるTNF- α 産生阻害活性

上記測定法により得られたLPS刺激マクロファージによるTNF- α 産生阻害活性IC₅₀値を下記表IIに示す。比較例は、前述のWO97/04775号実施例1記載の化合物である。

(31)

WO 99/38867

表 J1

実施例	TNF- α 産生阻害活性 IC ₅₀ (μ M)	実施例	TNF- α 産生阻害活性 IC ₅₀ (μ M)
9	0. 1	86	3
10	0. 01	92	0. 07
11	0. 004	93	2
16	0. 3	100	0. 07
17	0. 01	101	0. 003
18	0. 001	102	0. 070
19	0. 007	(スルホキ シド体)	
20	3. 0	102	0. 20
25	0. 0004	(スルホン 体)	
26	0. 0002	106	0. 09
27	0. 01	107	0. 003
28	0. 1	113	0. 3
32	4. 0	117	0. 002
33	5. 0	119	0. 00004
34	0. 08	120	0. 0007
39	5	122	1. 2
43	2. 5	123	1. 2
44	0. 01	126	1. 8
46	0. 5	127	0. 015
47	0. 8	139	0. 37
48	1. 5	140	0. 010
49	0. 2	149	0. 078
50	7	比較例	10. 0
51	0. 05	ロリプラム	0. 1
55	0. 01		
56	0. 015		

上記の試験結果から、本発明による1-シクロアルキル-1,8-ナフチリジン-4-オニン誘導体は良好なTNF- α 産生阻害効果を示すことが確認された。

本発明化合物は、IV型ホスホジエステラーゼを選択的に阻害することにより、さらにはTNF- α の産生を阻害することにより、気管支喘息、慢性気管支炎のような呼吸器疾患、アルツハイマー型病、バーキンソン氏病のような神経機能異常に関連する疾患、躁鬱病のような精神機能異常に関連する疾患、アトピー性皮膚炎、後天性免疫不全症候群のような炎症性疾患、変形性膝関節症、慢性関節リウマチのような全身あるいは局所の関節疾患、敗血症性ショック、内毒

素性ショックのような腫瘍壞死因子(TNF)および他のサイトカイン(IL-1, IL-6など)の関与する疾患などの予防または治療用の医薬組成物として有用である。

本発明におけるIV型ホスホジエステラーゼ阻害剤は、具体的には呼吸器疾患(

1-CYCLOALKYL-1,8-NAPHTHYRIDIN-4-ONE DERIVATIVES WITH PHOSPHODIESTERASE IV INHIBITORY ACTIVITY**Publication number:** WO9938867**Publication date:** 1999-08-05**Inventor:** SHIMAMOTO TETSUO (JP); INOUE HIDEKAZU (JP); HAYASHI YASUHIRO (JP)**Applicant:** SUNTORY LTD (JP); SHIMAMOTO TETSUO (JP); INOUE HIDEKAZU (JP); HAYASHI YASUHIRO (JP)**Classification:**- **international:** C07D471/04; C07D471/00; (IPC1-7): C07D471/04; A61K31/435- **European:** C07D471/04**Application number:** WO1999JP00404 19990129**Priority number(s):** JP19980017009 19980129**Also published as:**

EP0978516 (A1)

US6331548 (B1)

EP0978516 (A4)

CA2285352 (A1)

CN1156476C (C)

[more >>](#)**Cited documents:**

WO9704775

WO9606843

WO9412499

[Report a data error here](#)**Abstract of WO9938867**

1-Cycloalkyl-1,8-naphthyridin-4-one derivatives represented by formula (I); pharmacologically acceptable salts or solvates thereof; and a phosphodiesterase IV inhibitor containing any of these as an active ingredient, wherein R<1> represents optionally substituted cycloalkyl or optionally substituted heterocycloalkyl; R<2>, R<3>, and R<4> each independently represents hydrogen, optionally substituted lower alkyl, or halogeno; and X represents NR<5>R<6> or OR<7> (wherein R<5> and R<6> each independently represents hydrogen, optionally substituted lower alkyl, optionally substituted cycloalkyl, optionally substituted aryl, or optionally substituted heteroaryl; and R<7> represents hydrogen, optionally substituted lower alkyl, or optionally substituted cycloalkyl).

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

- 1 -

English translation (excerpt) of WO, 99/38867, A,
Page 30, Line 2 to Page 31, Line 2 from the bottom

(1) Measurement of TNF- α Production Inhibitory
Activity by LPS Stimulated Macrophages

The following assay was used to evaluate the ability of the compound of the present invention to suppress TNF- α production by LPS stimulated macrophages according to Immunopharmacol., 29, 121 - 127 (1995).

1) Female BALB/c mice (6 to 10 week old) were used, and received an intraperitoneal administration of thioglycolate at a dose of 2 ml. Four days later, the abdominal cavities were washed by 10 ml of PBS, whereby (1 to 2) $\times 10^7$ peritoneal cells were obtained per mouse. These were suspended in a hemolytic solution (0.75% ammonium chloride, 17 mM tris-HCl buffer, pH7.2), centrifuged, then resuspended in an RPMI1640 medium containing 10% fetal calf serum and seeded in a 96-well cell culture plate at a density of 1×10^5 cells/50 μ l/well. Since these cells adhered strongly to the tissue culture plate and were positive in nonspecific esterase staining, they were used for the test as mouse peritoneal macrophages. Mouse peritoneal macrophages were precultured overnight at 37°C in 50% CO₂ for the experiment.

2) E. Coli (serum type 055:B5) derived LPS was dissolved in PBS at a concentration of 1 mg/ml, then sterilized by filtration. The test compound was dissolved in DMSO to make a 1000-fold concentration solution of the final concentration for use. Ten μ l of the above LPS stock solution (final concentration 10 μ g/ml) and 1 μ l of the tested substance stock solution were added and mixed in 0.5 ml of RPMI1640 medium containing 10% fetal calf serum. This was added to the above cells at 50 μ l/well and

- 2 -

cultured for 8 hours. The cultured supernatant was recovered from each well and each TNF- α level was measured by ELISA (Cytoscreen™ Immunoassay Kit Mouse TNF- α , BioSource International).

3) The IC₅₀ was calculated for each compound as the concentration of the test compound inhibiting 50% of the TNF- α production caused by LPS stimulus.

(2) TNF- α Production Inhibitory Activity by LPS Stimulated Macrophages

The IC₅₀ values for the TNF- α production inhibitory activity obtained by the above method are shown in the following Table II. The comparative example was the compound described in WO-A-97-04775, Example 1, mentioned above.

- 3 -

Table II

Example	TNF- α production inhibitory activity IC ₅₀ (μ M)	Example	TNF- α production inhibitory activity IC ₅₀ (μ M)
9	0.1	86	3
10	0.01	92	0.07
11	0.004	93	2
16	0.3	100	0.07
17	0.01	101	0.003
18	0.001	102	0.070
19	0.007	(Sul-	
20	3.0	foxide)	
25	0.0004	102	0.20
26	0.0002	(Sulfon)	
27	0.01	106	0.09
28	0.1	107	0.003
32	4.0	113	0.3
33	5.0	117	0.002
34	0.08	119	0.00004
39	5	120	0.0007
43	2.5	122	1.2
44	0.01	123	1.2
46	0.5	126	1.8
47	0.8	127	0.015
48	1.5	139	0.37
49	0.2	140	0.010
50	7	149	0.078
51	0.05	Comp.	10.0
55	0.01	Ex.	0.1
56	0.015	Rolipram	

From the above results, it was confirmed that the 1-cycloalkyl-1,8-naphthyridin-4-one derivative of the present invention exhibits an excellent activity inhibiting the production of TNF- α .

The compound of the present invention is useful as a pharmaceutical composition for the prevention or treatment of bronchial asthma, chronic bronchitis, and other respiratory diseases, diseases relating to abnormality of the nervous system such as Alzheimer's Disease, Parkinson's Disease, diseases relating to mental abnormalities such as

- 4 -

maniac depression, inflammatory diseases such as atopic dermatitis and acquired immunity disorder syndrome, general or local joint diseases such as osteoarthritis, rheumatoid arthritis, sepsis, endotoxin shock and other diseases related to tumor necrosis factor (TNF- α) or other various cytokine (IL-1, IL-6, etc.), and the like by selectively inhibiting the type IV phosphodiesterase and further inhibiting the production of TNF- α .